

**(54) SUGAR-SUBSTITUTED WATER-SOLUBLE PORPHYRIN COMPOUND AND ITS PRODUCTION**

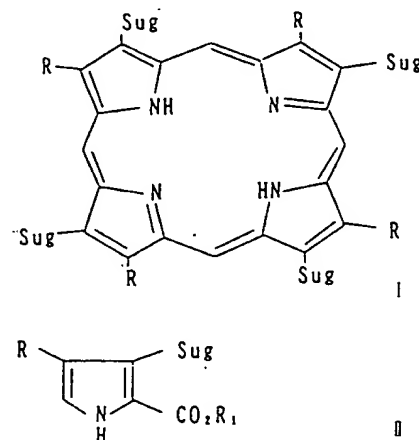
(11) 4-198191 (A) (43) 17.7.1992 (19) JP  
 (21) Appl. No. 2-328292 (22) 28.11.1990  
 (71) NIPPON SODA CO LTD (72) KAZUHIRO MARUYAMA(1)  
 (51) Int. Cl<sup>5</sup>. C07H7/06, A61K31/70

**NEW MATERIAL:** A compound expressed by formula I (R is lower alkyl; Sug is sugar residue after removing hydroxymethyl from sugars).

**EXAMPLE:** 3,8,13,18-Tetramethyl-2,7,12,17-tetra-(1,2,5,6-diisopropylidene-6-galacto) porphyrin.

**USE:** A water-soluble and neutral therapeutic agent for cancer.

**PREPARATION:** A compound expressed by formula II (R<sub>1</sub> is lower alkyl) is reduced with a reducing agent such as LiAlH<sub>4</sub> and then normally regulated to acidic conditions with p-toluenesulfonic acid, etc. The regulated compound is then subjected to dehydrating condensation in the presence of an oxidizing agent (e.g. p-chloranil or benzoxine).

**(54) AQUEOUS SOLUTION OF LIPID A ANALOG**

(11) 4-198192 (A) (43) 17.7.1992 (19) JP  
 (21) Appl. No. 2-322332 (22) 28.11.1990  
 (71) JAPAN TOBACCO INC (72) TORU HIBI(2)  
 (51) Int. Cl<sup>5</sup>. C07H15/04, A61K37/20, A61K47/18, A61K47/22

**PURPOSE:** To obtain the subject aqueous solution, excellent in solubility and rich in stability and safety by using meglumine, etc., as a solubilizing agent.

**CONSTITUTION:** Meglumine, piperazine, a polyamine or a basic amino acid is used as a solubilizing agent to afford an aqueous solution of a lipid A analog (e.g. 2-deoxy-2-[(3R)-3-hydroxytetradecanamido]-4-O-phosphono-3-O-[(3RS)-3-myristoyloxytetradecanoyl]-D-glucopyranose). The resultant aqueous solution is useful as an injection, a solution for internal use, etc.

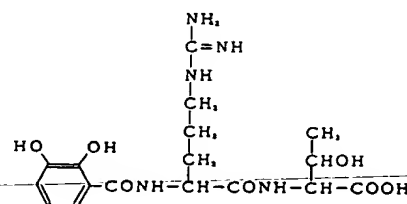
**(54) NEW ENZYME INHIBITOR BENARTIN AND ITS PRODUCTION**

(11) 4-198193 (A) (43) 17.7.1992 (19) JP  
 (21) Appl. No. 2-325958 (22) 29.11.1990  
 (71) MICROBIAL CHEM RES FOUND (72) TOMIO TAKEUCHI(4)  
 (51) Int. Cl<sup>5</sup>. C07K5/06, C12P21/02//A61K37/02, C12N9/99(C12P21/02, C12R1/465)

**NEW MATERIAL:** A compound, expressed by the formula and having the following properties. Appearance; white powder. Melting point 178-180°C. Molecular formula; C<sub>17</sub>H<sub>25</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub>. Elementary analysis (%); C<sub>17</sub>H<sub>25</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub>·HCl·1/2H<sub>2</sub>O; C, 44.46; H, 6.28; N, 14.54; O, 26.08. Mass spectrum; FAB-MS (pos.) m/z 412(M+H)<sup>+</sup>, (neg.) m/z 410(M-H)<sup>-</sup>. Specific rotatory power; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -2.5° (C=1.0, H<sub>2</sub>O). Solubility; soluble in water, methanol and dimethyl sulfoxide and insoluble in chloroform, ethyl acetate and n-hexane. Color reaction; positive to 10% sulfuric acid, SAKAGUCHI, iodine and molybdenic acid-reagent, etc.

**USE:** A therapeutic agent for pituitary hormone hyposecretion.

**PREPARATION:** A microorganism such as Streptomyces-sp. MJ244-SFI (FERM P-11769), belonging to the genus Streptomyces and capable of producing the aforementioned benartin is cultured at 26-30°C under aerobic conditions for 2-7 days.



⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

平4-198192

⑬ Int. Cl.<sup>9</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 平成4年(1992)7月17日

C 07 H 15/04  
A 61 K 37/20

ABA  
ADU

D 7822-4C  
8317-4C

47/18

G 7624-4C

47/22

J 7624-4C

J 7624-4C

J 7624-4C

審査請求 未請求 請求項の数 3 (全5頁)

⑮ 発明の名称 リビッドA類縁体の水溶液

⑯ 特 願 平2-322332

⑰ 出 願 平2(1990)11月28日

⑱ 発 明 者 日 比 徹 神奈川県横浜市緑区梅が丘6番地2 日本たばこ産業株式会社医薬研究所内

⑲ 発 明 者 掛 江 敦 之 神奈川県横浜市緑区梅が丘6番地2 日本たばこ産業株式会社医薬研究所内

⑳ 発 明 者 斎 藤 豊 神奈川県横浜市緑区梅が丘6番地2 日本たばこ産業株式会社医薬研究所内

㉑ 出 願 人 日本たばこ産業株式会社 東京都品川区東品川4丁目12番62号

明 細 書

1. 発明の名称

リビッドA類縁体の水溶液

2. 特許請求の範囲

1. メグルミン、ピペラジン、ポリアミン又は塩基性アミノ酸を含有することを特徴とするリビッドA類縁体の水溶液。

2. ポリアミンがスベルミン、スベルミジン又はブトレシンである請求項1記載のリビッドA類縁体の水溶液。

3. 塩基性アミノ酸がリジン又はアルギニンである請求項1記載のリビッドA類縁体の水溶液。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明はリビッドA類縁体の水溶液に関し、更に詳細には、メグルミン、ピペラジン、ポリアミン又は塩基性アミノ酸を含有してなるリビッドA類縁体の水溶液に関する。

(従来の技術及び発明が解決しようとする課題)

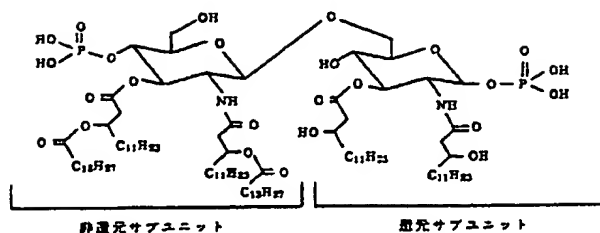
グラム陰性菌の細胞表面は、細胞膜、それを取

り囲む細胞壁ペプチドグルカン及び外膜から成っており、この外膜はエンドトキシンショックを惹起する内毒素の主成分であるリポポリサッカライド(以下、「LPS」という)を含んでいる。

LPSは酸性タンパク質部分、高分子多糖部分、リン脂質部分の三つの部分から成り立っており、発熱作用、出血作用、関節炎発症、脳脊髄炎発症といった作用の他に、その宿主防禦機構である免疫を賦活する作用(マクロファージ活性化作用、B細胞幼若化作用、細胞性免疫賦活活性化作用など)や抗癌作用(インターフェロン誘導作用、腫瘍壊死因子誘導作用など)を持っていることが知られている。

斯かるLPSの活性発現中心は、上記三つの部分のうち、リビッドAと呼ばれる糖酸基を有する糖脂質であり、二糖アミンに脂肪酸酸基とリン酸が結合した構造を有している(日本細菌学雑誌, 40(1), 57(1985)及びProc. Natl. Acad. Sci. USA, 80, 4624(1983))。

## E. Coli のリピッド A



最近に到り、リピッド A と同様の活性を有する様々な脂体体が合成されているが、多くのリピッド A 脂体体は水に溶解性又は不溶性であるために注射剤などの液剤化が困難である。この様な水に溶解性又は不溶性のリピッド A 脂体体に関し、従来より、可溶化剤としては、例えば牛血清アルブミン、トリエチルアミンなどが使用されているが、可溶化能及び液剤上の安定性や安全性の面で、未だ十分なものは皆えず、実用化までには到っていない (Eur. J. Biochem. 31, 230~233 (1972) 及び Microbiology-1977, 269~276 (1977))。

シテトラデカナミド}-4- $\alpha$ -ホスホノ-3- $\alpha$ -[(3R,5S)-3-ミリスチルオキシテトラデカノイル]-D-グルコピラノース

①、5-アンヒドロ-2-デオキシ-2-[(3R)-3-ヒドロキシテトラデカナミド]-4- $\alpha$ -ホスホノ-3- $\alpha$ -[(3R,5S)-3-ウンデシルヘプタデカノイル]-D-グルシトール

②、1, 5-アンヒドロ-2-デオキシ-2-[(3R)-3-ヒドロキシテトラデカナミド]-4- $\alpha$ -ホスホノ-3- $\alpha$ -[(2R,5S)-2-テトラデシルヘキサデカノイル]-D-グルシトール

③、1, 5-アンヒドロ-2-デオキシ-3- $\alpha$ -[(2R,5S)-2-ドデシルヘキサデカノイル]-2-[(3R)-3-ヒドロキシテトラデカナミド]-4- $\alpha$ -ホスホノ-D-グルシトール

本発明において使用される可溶化剤としてはメグルミン、ピペラジン、ポリアミン又は塩基性ア

(問題を解決するための手段)

本発明者は、リピッド A 脂体体の水溶液、特に注射用液剤を調製する目的で種々の可溶化剤を用いてリピッド A 脂体体の可溶化方法について鋭意研究を重ねた結果、メグルミン、ピペラジン、ポリアミン又は塩基性アミノ酸を可溶化剤として使用することにより、溶解性に優れ、且つ安定性、安全性に富んだリピッド A 脂体体の水溶液が得られることを見出し、本発明を完成するに到った。

即ち、本発明はメグルミン、ピペラジン、ポリアミン又は塩基性アミノ酸を含有してなるリピッド A 脂体体の水溶液、特に注射剤、内服液剤などの液剤を提供することを目的とする。

本発明において使用される「リピッド A 脂体体」とは、前記した大腸菌 (*Escherichia coli*) 由来のリピッド A の非還元部分を基本骨格とするもので、具体的には以下のリピッド A の脂体体を挙げるができるが、本発明はこれら脂体体に限定されるものではない。

④ 2-デオキシ-2-[(3R)-3-ヒドロキ

ミノ酸を挙げることができる。このうち、「ポリアミン」とは第一級アミノ基を二つ以上持つ直鎖の脂肪族炭化水素であり、生体内に存在するアミン類である。具体的にはスベルミン、スベルミジン、ブトレシンなどが挙げられる。また、「塩基性アミノ酸」としてはリジン、アルギニンなどが挙げられ、これらアミノ酸はラセミ体及び光学異性体である D-体又は L-体を使用することができる。

これら可溶化剤はリピッド A 脂体体を溶解し得る必要最小量が用いられれば良く、例えばリピッド A 脂体体 1 重量部に対して、通常、メグルミン、ポリアミン又は塩基性アミノ酸の場合には 3 重量部以上、ピペラジンの場合には 10 重量部以上を使用することができる。

一般的には、リピッド A 水溶液を調製する場合、緩衝剤、界面活性剤、等張剤などの補助剤及び抗酸剤、保存剤などの添加剤などを併用することができるが、これら補助剤や添加剤を使用せずに、可溶化剤のみを用いることもできる。

更に、これら可溶化剤を使用して、リビッドA懸濁体を可溶化する方法は、例えば、リビッドA懸濁体と可溶化剤とを直接混合し溶解する方法、予め可溶化剤を水溶液とし、この水溶液にリビッドA懸濁体、若しくはリビッドA懸濁体を有機溶媒に溶解したものを溶解性を増すために一旦蒸発乾固させた後混合し溶解する方法、又は有機溶媒と可溶化剤を混合した少量の水の混液にリビッドA懸濁体を混合し、若しくはリビッドAを有機溶媒に溶解したものに少量の可溶化剤の水溶液を混合し蒸発乾固した後水を加えて溶解する方法などが挙げられる。

また、本発明においては必要によりpH調節剤を使用することができ、例えばアスパラギン酸、グルタミン酸などの酸性アミノ酸やグルコン酸、乳酸、クエン酸、檸檬酸、酒石酸、コハク酸、リンゴ酸等の有機酸などが挙げられる。これらpH調節剤は使用する可溶化剤に合わせて適宜選択して使用されるが、通常はリビッドA懸濁体の水溶液のpH値が10以下になるように使用されること

2-デオキシ-2-((3R)-3-ヒドロキシテトラデカナミド)-4-O-ホスホノ-3-O-((3RS)-3-メリスチルオキシテトラデカノイル)-D-グルコピラノース(1mg)をクロロホルム・メタノール混液(CHCl<sub>3</sub>:MeOH=2:1)に溶解させた後、エバポレーターで蒸発乾固した。これに適量のクエン酸を加えた1%メグルミン水溶液(1ml)を加え、ボルテックスにより振とうさせbath型超音波で処理し、無色透明な溶液を得た。この水溶液のpHは8.95、濃度(OD<sub>260</sub>)は0.1603であった。

#### 実施例3

1%メグルミン水溶液(1ml)に適量のグルコン酸を加えた後、2-デオキシ-2-((3R)-3-ヒドロキシテトラデカナミド)-4-O-ホスホノ-3-O-((3RS)-3-メリスチルオキシテトラデカノイル)-D-グルコピラノース(1mg)を溶解させた後、ボルテックスにより振とうさせbath型超音波で処理し、無

色が望ましい。

本発明に係わるリビッドA懸濁体の水溶液を調製する場合には、当該分野において通用いられる方法に従い、注射用製剤或は内服液剤などの各種液剤を調製することが可能である。

以下に、実施例及び試験例により本発明を更に具体的に説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

#### 〔実施例〕

##### 実施例1

1%メグルミン水溶液(1ml)に適量のグルタミン酸を加えた後、2-デオキシ-2-((3R)-3-ヒドロキシテトラデカナミド)-4-O-ホスホノ-3-O-((3RS)-3-メリスチルオキシテトラデカノイル)-D-グルコピラノース(1mg)を溶解させた後、ボルテックスにより振とうさせbath型超音波で処理し、無色透明な溶液を得た。この水溶液のpHは9.84、濃度(OD<sub>260</sub>)は0.0513であった。

##### 実施例2

色透明な溶液を得た。この水溶液のpHは9.56、濃度(OD<sub>260</sub>)は0.0674であった。

##### 実施例4

10%リジン水溶液(1ml)に2-デオキシ-2-((3R)-3-ヒドロキシテトラデカナミド)-4-O-ホスホノ-3-O-((3RS)-3-メリスチルオキシテトラデカノイル)-D-グルコピラノース(1mg)を溶解させた後、ボルテックスにより振とうさせbath型超音波で処理し、無色透明な溶液を得た。この水溶液のpHは10.37、濃度(OD<sub>260</sub>)は0.0106であった。

##### 実施例5

1%スベルミン水溶液(1ml)に2-デオキシ-2-((3R)-3-ヒドロキシテトラデカナミド)-4-O-ホスホノ-3-O-((3RS)-3-メリスチルオキシテトラデカノイル)-D-グルコピラノース(1mg)を溶解させた後、ボルテックスにより振とうさせbath型超音波で処理し、無色透明な溶液を得た。この水溶

液のpHは12.10、濁度(OD<sub>660</sub>)は0.0346であった。

#### 実施例8

10%ピペラジン水溶液(1ml)に2-デオキシ-2-((3R)-3-ヒドロキシテトラデカナミド)-4- $\Omega$ -ホスホノ-3- $\Omega$ -((3R,S)-3-ミリスチルオキシテトラデカノイル)- $\Omega$ -グルコピラノース(1mg)を溶解させた後、ボルテックスにより振とうさせbath型超音波で処理し、無色透明な溶液を得た。この水溶液のpH12.29は、濁度(OD<sub>660</sub>)は0.0095であった。

#### 実施例7

1,5-アンヒドロ-2-デオキシ-2-((3R)-3-ヒドロキシテトラデカナミド)-4- $\Omega$ -ホスホノ-3- $\Omega$ -((2R,S)-2-テトラデシルヘキサデカノイル)- $\Omega$ -グルシトール(1mg)を実施例1と同様の方法により処理し、無色透明な溶液を得た。この水溶液の濁度(OD<sub>660</sub>)は0.2804であった。

#### (試験例)

##### 試験例1

方法：実施例7乃至8で得られた製剤を用い、室温における濁度変化を経時的に検討した。なお、濁度の測定にはDU<sub>75</sub>スペクトロフォトメーター(ベックマン社製；OD<sub>660nm</sub>)を用いた。

結果：表1に示した。各製剤調製後5週間経過しても、濁度の変化は殆ど認められなかった。

表1

	OD <sub>660</sub>			
	製造直後	1週間後	2週間後	5週間後
実施例7	0.2804	0.2742	0.2702	0.2630
実施例8	0.1885	0.1812	0.1931	0.1885

#### 実施例8

1,5-アンヒドロ-2-デオキシ-3- $\Omega$ -((2R,S)-2-ドデシルヘキサデカノイル)-2-((3R)-3-ヒドロキシテトラデカナミド)-4- $\Omega$ -ホスホノ- $\Omega$ -グルシトール(1mg)を実施例1と同様の方法により処理し、無色透明な溶液を得た。この水溶液の濁度(OD<sub>660</sub>)は0.1885であった。

#### 実施例9

1%メグルミン水溶液(10ml)に適量のグルタミン酸を加えた後、1,5-アンヒドロ-2-デオキシ-2-((3R)-3-ヒドロキシテトラデカナミド)-4- $\Omega$ -ホスホノ-3- $\Omega$ -((3R,S)-3-ウンデシルヘプタデカノイル)- $\Omega$ -グルシトール(0.5mg)とグリセリン(0.25g)を溶解させた後、ボルテックスにより振とうさせbath型超音波で処理し、無色透明な溶液を得た。この水溶液のpHは9.928、濁度(OD<sub>660</sub>)は0.006であった。

#### 試験例2

方法：実施例7乃至8で得られた製剤を用い、室温における経時的変化を薄層クロマトグラフィーを用いて検討した。

なお、薄層クロマトグラフィーの条件は以下の通りとした。

(展開層) クロロホルム：メタノール：水：

アンモニア=50：25：4：2

(発色剤) 50%硫酸/エタノール

(スポット量) 10 $\mu$ l

結果：表2に示した。各製剤調製後5週間経過しても、Rf値に変化は認められず、新たな別のスポットの生成もなかった。

表2

	Rf値			
	製造直後	1週間後	2週間後	5週間後
実施例7	0.48	0.48	0.48	0.48
実施例8	0.49	0.49	0.49	0.49

## 試験例3

方法：実施例9で得られた製剤を用いて濁度（OD<sub>660</sub>）、pH値及び浸透圧（mOsm）を測定することにより本製剤の経時的変化を検討した。

結果：表3に示した。製剤調製後5週間経過しても、濁度、pH値及び浸透圧の変化は殆ど認められなかった。

## 【発明の効果】

本発明における可溶性剤を使用して調製されたリピッドA懸液体の水溶液は、長期間に亘り、濁度変化及びpH変化が殆ど認められず、優れた安定性を示した。

特許出願人 日本たばこ産業株式会社

表 3

	製造直後	1週間後	2週間後	5週間後
OD <sub>660</sub>	0.0060	0.0020	0.0125	0.0179
pH値	9.928	9.922	9.781	9.686
浸透圧値(mOsm)	343	345	348	351